AMEA-nın Xəbərləri (biologiya və tibb elmləri), cild 68, №2, səh. 76-85 (2013)

Aegilotriticale İlə Yumşaq Buğda (*Triticum aestivum* L.) Arasındakı Cinsarası Qısaboylu Xətlərin Klassik Və Molekulyar Sitogenetik Metodlarla Tədqiqi

A.C.Əliyeva, N.X.Əminov

AMEA Genetik Ehtiyatlar İnstitutu, Azadlıq prospekti 155, Bakı AZ 1106, Azərbaycan; E-mail: arzu2007@mail.ru; anaib@rambler.ru

***Aegilotriticale* və ya üççinsli natamam amfidiploid [(*Triticum durum* Desf. × *Aegilops tauschii* Coss.) × *Secale cereale* L. ssp. *segetale* Zhuk.] (genom formulu AABBD/R, 2n=6x=42) ilə yumşaq buğdanın (*T. aestivum* L.) Chinese Spring sortu (AABBDD, 2n=6x=42) arasındakı çarpazlaşmanın məhsulu olan 17 qısaboylu – 9 karlik (K) və 8 yarımkarlik (YK) xətt klassik (meyotik analiz) və molekulyar sitogenetik (FISH, GISH) metodlarla tədqiq olunmuşdur. Tədqiqatlar sayəsində onlardan birinin (377YK) translokant (T4DS-7RL), səkkizinin əvəzolunmuş xətt, qalanlarının isə yalnız buğda xromosomlarından ibarət olduğu müəyyən edilmişdir. 8 əvəzolunmuş xəttin dördündə (378/1YK, 384/1K, 384/2K, 386/1K) əvəzlənmənin bir cüt [müvafiq olaraq, 1D(1B), 1R(1D), 1R(1D), 5R(5A)], ikisində (375YK, 383/1YK) iki cüt [müvafiq olaraq, 2D(2R), 5B(5A) və 1R(1D), 2R(2D)], ikisində (378/3YK və 380YK) dörd cüt [378/3YK xəttində 1R(1B), 2D(2R), 3D(3R), 6D(6R) və 380YK xəttində 1D(1R), 2D(2R), 3D(3R), 6D(6R)] xromosom arasında baş verdiyi aşkar olunmuşdur. Xromosomların identifikasiyası prosesində 375YK xəttində bir cüt 5A xromosomunun yoxluğu və onun əvəzində 5B xromosomunun ikiqat dozada iştirakı, 380YK-da isə bir cüt telosentrik çovdar xromosomunun (7Rt) varlığı birincinin nullisom(5A)-tetrasom(5B) (Nt), ikincinin ditelosom (Dt) olduğunu nümayiş etdirmişdir. Həmçinin, 375YK xəttində tək qalmış 1B xromosomuna homoloq olduğu zənn edilən bir naməlum buğda xromosomu müşahidə edilmişdir. Bundan başqa, genom tərkibində dörd və daha çox çovdar xromosomu olan xətlərin digərlərinə nisbətən meyotik cəhətdən bir qədər qeyri-stabil olduqları qeydə alınmışdır.**

Açar sözlər: *cinsarası hibridləşmə, qısaboylu, meyoz, FISH, GISH, xromosom identifikasiyası, translokasiya, əvəzolunmuş xətt.*

GİRİŞ

Uzaq hibridləşmələr zamanı buğda seleksionerlərinin başlıca məqsədi qohum cins və ya növlərin təsərrüfat əhəmiyyətli genlərini buğdaya ötürməkdir. Seleksiya proqramlarında genetik materialın çovdardan buğdaya ötürülməsi böyük əhəmiyyət kəsb edir. Buğdanın çovdarla hibridləşdirilməsi nəticəsində keçən əsrin birinci yarısında bir cüt 1B xromosomunun bir cüt 1R xromosomu ilə əvəz olunduğu bir neçə yumşaq buğda sortu yaradılmışdır ki, onların da bəzilərinin kariotipləri sonradan dəyişikliyə məruz qalaraq, 1BL.1RS translokasiyasının meydana gəlməsi ilə nəticələnmişdir (Zeller, 1973). Bir qədər sonra yumşaq buğda sortlarında 1AL.1RS və 1DL.1RS xromosomlarının da qoşulduğu yeni translokasiyalar aşkar edilmişdir (Zeller, Fuchs, 1983). Hazırda, ətraf mühitin biotik və abiotik amillərinə davamlı yüzlərlə yüksəkməhsuldar buğda sortlarında 1BL.1RS translokasiyasının varlığı müəyyən edilmişdir. 1BL.1RS translokasiyası haqda ilk dəfə 1937-ci ildə məlumat verilmişdir. 1BL.1RS translokasiyası gövdə pasına (*Puccinia graminis*), yarpaq pasına (*P. recondita*), sarı pasa (*P. striiformis*), unlu şehə (*Erysiphe graminis*) və mənənəyə (*Schizaphis graminum*) qarşı davamlılıq genlərini (müvafiq olaraq, *Sr31*; *Lr26*; *Yr9*; *Pm8*; *Gb*) daşıyan xromosom

seqmentinə malikdir və Macarıstanın qeydiyyatdan keçmiş 66 yumşaq buğda sortundan 35-inin həmin translokasiyanın daşıyıcısı olduğu aşkar edilmişdir (Kőszegi et al., 2000).

Odur ki, çovdarın 1R xromosomunun qısa çiyninin yumşaq buğdanın rüşeym plazmasına translokasiyası XX əsrin seleksiya sahəsindəki ən mühüm nailiyyəti hesab edilir. Müasir dövrdə bu translokasiyaya malik sortların yayılma tezliyi dən istehsalı ilə məşğul olan Çin, Hindistan, Avstraliya, ABŞ, Ukrayna və s . kimi ölkələrdə 30-40 %-ə qədər yüksəlmişdir (Huang et al., 2007; Kozub et al., 2009). Bir qrup tədqiqatçı (Lukaszewski, 1990; Villareal et al., 1998) genomunda 1R xromosomunun qısa çiynini (1RS) daşıyan sortların, digər buğda-çovdar translokasiyasına malik sortlarla müqayisədə, daha geniş əkin sahələri tutduqlarını qeyd etmişlər. Məlum olmuşdur ki, buğdanın 1B xromosomuna çovdarın genetik materialının translokasiyası yumşaq buğda sortlarının bioloji xüsusiyyətlərini əhəmiyyətli dərəcədə dəyişir, onların sabit olmayan ətraf mühitə immunitet və adaptivliyini yüksəldir (Конарев В., 1998). Odur ki, müxtəlif genom tərkibinə malik genetik materialın yaradılması dənli bitkilərin (*Triticale* və *Secalotricim*) genomlarının formalaşma xüsusiyyətlərini və xromosom rekonstruksiyalarını aşkara çıxarmağa imkan verməklə bərabər, kənd təsərrüfatı bitkilərinin genetik müxtəlifliyinin artırılması, adaptivlik potensialının və davamlılığının yüksəldilməsi baxımından da mühüm əhəmiyyət kəsb edir.

Bu mənada sintetik *Aegilotriticale* bir sıra qiymətli, o cümlədən çoxgövdəlilik və çoxdənlilik (çoxçiçəklilik) kimi əlamətlərin buğdaya ötürülməsində körpü rolunu oynayır. Həmin egilotritikalenin, üstəlik, qısaboyluluq genlərinə malik olması onu seleksiya baxımdan daha da əlverişli edir. Qısaboylu formaların genetika və seleksiyada xüsusi əhəmiyyət kəsb etdiklərini nəzərə alıb, biz, ilk dəfə olaraq, çırtdanlıq genlərinin mənbəyi kimi üççinsli natamam amfidiploid – *Aegilotriticale*–dən (Аминов, Мамедов, 1981) istifadə etmişik. Qeyd edək ki, bizim başlanğıc material kimi götürdüyümüz natamam amfidiploid bu tələblərin hər ikisinə cavab verdiyindən, yəni həm qısa gövdəyə (70-90 sm), həm də iri və çoxçiçəkli sünbüllərə malik olduğundan, onunla yumşaq buğdanın Opal və Chinese Spring sortları arasında çarpazlaşma aparılmış və qısaboylu xətlərin alınması istiqamətində məqsədyönlü seçmə işləri həyata keçirilmişdir.

Xatırladaq ki, cinsarası F_1 hibridlər homomorf olub, sünbülün forması və bitkinin boyu etibarı ilə aralıq xarakter daşımışlar. F_2-də uzaq hibridləşmələr üçün xarakterik olan güclü formaəmələgəlmə nəticəsində meydana çıxmış boyca bir-birindən fərqli fraksiyalar içərisindən qısaboylu formalar (55-60 sm) seçilmiş və onlar üzərində sonrakı nəsillərdə də genetik-seleksion tədqiqat işləri davam etdirilmişdir (Əliyeva, 1998). Həmin qısaboylu formalar əsasında yüksək fertilliyə malik və xəstəliklərə qarşı davamlı stabil karlik və yarımkarlik xətlər yaradılmışdır.

Hazırkı tədqiqat işinin məqsədi bu qısaboylu – karlik (K) və yarımkarlik (YK) xətlərdə çovdar genomu xromosomlarının olub-olmadığını müəyyənləşdirmək və hər bir xəttin genomunu təşkil edən istər buğda, istərsə də çovdar genomu xromosomlarını identifləşdirməkdən ibarətdir.

Bitki seleksiyası proqramlarında cinsarası hibrid və xətlərdə yad xromosomlar, xromosom seqmentləri, xromosom aberrasiyaları və genlər flüoressens *in situ* hibridləşmə (FISH) və genom *in situ* hibridləşmə (GISH) metodlarının köməyilə asanlıqla identifikasiya olunurlar. Onları təkcə hibrid və amfidiploidlərin yüksək keyfiyyətli metafaz lövhələrində deyil, interfaz nüvəsi daxilində də görmək və saymaq mümkündür. Bir neçə tədqiqat işində (Chung et al., 1990; Rawlins et al., 1991) *in situ* hibridləşmənin köməyilə telomer və sentromerlərin interfaz hüceyrələrdəki mövqeyi tədqiq edilmişdir. Beləliklə, FISH nişanlanmış DNT zondlarının birbaşa xromosomda lokallaşdırılmasına, GISH isə bitki genomunun sitogenetik analizinin

bərpasına və molekulyar seleksiyaya şərait yaratdığı üçün, bu metodlardan, həmçinin, xromosom xəritələnməsində, genom analizində, filogenetik qohumluğun müəyyənləşdirilməsində, xromosom aberrasiyalarının, o cümlədən translokasiyaların və yad xromatinin aşkar edilməsində uğurla istifadə olunur (Devi et al., 2005).

MATERİAL VƏ METODLAR

Tədqiqat materialı kimi *Aegilotriticale* və ya üçcinsli natamam amfidiploid [(*Triticum durum* Desf. × *Aegilops tauschii* Coss.) × *Secale cereale* L. ssp. *segetale* Zhuk.] (genom formulu AABBD/R, 2n=6x=42) ilə yumşaq buğdanın (*T. aestivum* L.) Chinese Spring sortu (AABBDD, 2n=6x=42) arasındakı hibridləşmənin məhsulu olan 17 qısaboylu – 9 karlik və 8 yarımkarlik xətdən istifadə edilmişdir (Cədvəl 1). Qeyd etmək lazımdır ki, 378/3YK xətti digərlərindən həm də sünbüllərinin şaxəli olması ilə fərqlənmişdir (Şəkil 1).

Cədvəl 1. Cinsarası qısaboylu xətlər

S.s.	Qısaboylu xətlər	2n	Boy (sm-lə)
1.	373K	42	55,0
2.	374K	42	59,2
3.	375YK	42	80,0
4.	376K	42	58,4
5.	377YK	42	64,2
6.	378/1YK	42	62,0
7.	378/3YK	42	65,0
8.	380YK	44	64,0
9.	382K	42	57,5
10.	383/1YK	42	67,0
11.	383/2YK	42	65,0
12.	384/1K	42	58,0
13.	384/2K	42	58,0
14.	385YK	42	67,0
15.	386/1K	42	55,0
16.	387YK	42	64,8
17.	625K	42	58,5

Molekulyar sitogenetik tədqiqatlar zamanı isə somatik hüceyrələrdən ibarət əzmə preparatlar J. Jiang və həmkarlarının (1994) təklif etdiyi qaydada hazırlanmışdır. FISH G.Link və həmkarlarının (1999) təsvir etdikləri şəkildə həyata keçirilmişdir. Bu zaman çovdardan (*Secale cereale*) alınmış yüksəktəkrarolunan DNT ardıcıllıqlarını daşıyan pSc119.2 zondundan (Bedbrook et al., 1980), buğdadan xaric edilmiş ribosomal 45S (pTa71) DNT zondundan (Gerlach et Bedbrook, 1979) və Afa-ailəsindən (Nagaki et al., 1995) istifadə edilmişdir. GISH isə S.Rider və həmkarlarının (1994) metodikasına M.Molnar-Lang və başqalarının (2000) cüzi modifikasiyası əsasında aparılmışdır.



Şəkil 1. Qısaboylu şaxəlisünbüllü 378/3YK xətti

Çovdar xromosomlarını aşkar etmək üçün çovdardan xaric edilmiş voz-s zondundan istifadə edilmişdir. Xromosomlar, FITC üçün 10, rodamin üçün 15, DAPI üçün 01 saylı filtr dəstlərindən istifadə edilməklə, Zeiss Axioskop-2 epiflüoressens mikroskopunda tədqiq olunmuşdur. Şəkillər Spot CCD kamerasının (Diagnostic Instruments, Sterling Heights) köməyilə Zeiss Axioskop-2 epiflüoressens mikroskopunda çəkilmiş və ImagePro Plus 4.0 Software (Media Cybernetics Silver Spring, MA, USA) proqramı ilə kompilə edilmişdir.

NƏTİCƏLƏR VƏ ONLARIN ÜZAKİRƏSİ

Cinsarası qısaboylu xətlərdə, ilk növbədə, meyoz prosesi zamanı xromosom konyuqasiyasının xarakteri tədqiq olunmuş və alınan nəticələr öz əksini Cədvəl 2-də tapmışdır.

Cədvəldən göründüyü kimi, 380YK (2n=44) istisna olmaqla, qalan bütün xətlərin heksaploid (2n=42) olduqları müəyyən edilmişdir. Xromosom konyuqasiyası səviyyəsinin, yəni qapalı bivalentlərin sayının 373K, 374K, 376K, 382K, 383/2YK, 384/1K, 384/2K, 385YK, 386/1K, 387YK və 625K xətlərində yüksək (19,11-19,68), 375YK, 378/1YK, 378/3YK, 380YK və 383/1YK xətlərində isə bir qədər aşağı (14,63-17,74) olduğu müşahidə edilmişdir. Məhz bu səbəbdən də sonuncularda açıq bivalentlərin və univalentlərin sayının artdığı və onların əvvəlkilərdən fərqli olaraq, üstəlik, tri- və kvadrivalentlər şəklində multivalent assosiasiyalara malik olduqları qeydə alınmışdır.

Maraqlıdır ki, digər bir təcrübədə (Chrząstek, 2003) yumşaq buğda ilə çovdar arasındakı əlavəolunmuş və əvəzolunmuş xətlərin əksəriyyətində açıq bivalent və univalentlərin sayının, valideyn sortlarla müqayisədə, bir qədər çoxaldığı, univalentlərin əsasən çovdar xromosomları ilə təmsil olunduğu qeyd olunsa da, onlarda multivanent assosiasiyalara təsadüf edilməmişdir.

4DS-7RL translokasiyasına malik 377YK xəttində qapalı və açıq bivalentlərin, eləcə də univalentlərin sayı hər bir ATH (ana tozcuq hüceyrəsi) üçün orta hesabla, müvafiq olaraq, 18,60, 1,42 və 1,96 ədəd təşkil etmişdir. Meyozun tədqiqi zamanı xətlərin bəzilərində az miqdarda meyotik pozuntulara, o cümlədən asinxron və qeyri-bərabər bölünmələrə, mikronüvəli diad və tetradlara təsadüf olunmuşdur.

Həmin xətlərin molekulyar sitogenetik metodlarla (FISH, GISH) tədqiqi sayəsində 17 xətdən 8-inin (373K, 374K, 376K, 382K, 383/2YK, 385YK, 387YK, 625K) yalnız buğda genomu xromosomlarından ibarət olduğu, digər 8-inin (375YK, 378/1YK, 378/3YK, 380YK, 383/1YK, 384/1K, 384/2K, 386/1K) genom tərkibində buğda xromosomları ilə yanaşı 2-dən 14-ədək çovdar xromosomunun və yalnız bir xəttdə (377YK) bir cüt 4DS-7RL translokasiyasının varlığı aşkar edilmişdir (Cədvəl 3).

Beləliklə, tədqiqatlar sayəsində 375YK xəttinin 12 ədəd A (1A-4A, 6A-7A) genomu xromosomuna malik olmaqla, 5A xromosomuna görə nullisom, 15 ədəd B (1B təkdir, 2B-4B, 5B ikiqat dozada, yəni 4 ədəddir, 6B-7B) genomu xromosomuna malik olmaqla, 5A xromosomuna görə nullisom, 1B xromosomuna görə monosom, 5B xromosomuna görə isə tetrasom olduğu, habelə bir cüt 2D və 12 ədəd çovdar (1R, 3R-7R) genomu xromosomuna malik olduğu müəyyən edilmişdir. Eyni zamanda, 375YK xəttinin genom tərkibində bir ədəd naməlum xromosomun varlığı aşkar edilmişdir. Tərəf-müqabili olmayan monosom 1B xromosomuna homoloqluğu

Cədvəl 2. Cinsarası stabil qısaboylu xətlərdə meyoz prosesi zamanı xromosom konyuqasiyasının analizi

Qısaboylu xətlər	ATH	qapalı bivalentlər	açıq bivalentlər	uni-valentlər	tri-valentlər	kvadri-valentlər	XƏTT	2n
373K	129	19,61±0,20	0,98±0,25	0,84±0,37			40,20±0,44	42
374K	133	19,38±0,36	1,32±0,36	0,60±0,24			40,09±0,35	42
375YK	147	14,63±0,45	4,61±0,40	2,95±0,38	0,07±0,10	0,09±0,12	34,30±0,37	42
376K	157	19,62±0,32	1,14±0,40	0,48±0,33			40,38±0,22	42
377YK	131	18,60±0,26	1,42±0,32	1,96±0,33			38,65±0,33	42
378/1YK	145	16,78±0,49	3,65±0,46	0,90±0,39	0,04±0,11	0,03±0,10	37,43±0,43	42
378/3YK	103	17,19±0,39	1,79±0,22	2,74±0,20	0,18±0,14	0,19±0,17	37,12±0,41	42
380YK	156	17,35±0,50	2,99±0,55	2,42±0,47	0,14±0,11	0,12±0,10	38,35±0,50	44
382K	112	19,34±0,33	1,39±0,33	0,54±0,23			40,08±0,30	42
383/1YK	120	17,74±0,27	2,47±0,26	1,26±0,32		0,08±0,11	38,21±0,36	42
383/2YK	131	19,41±0,32	1,28±0,34	0,63±0,24			36,46±0,47	42
384/1K	128	19,54±0,26	1,11±0,26	0,70±0,24			40,20±0,48	42
384/2K	111	19,68±0,16	0,99±0,19	0,66±0,31			39,47±0,22	42
385YK	125	19,48±0,18	1,16±0,23	0,72±0,42			40,13±0,27	42
386/1K	119	19,66±0,30	1,06±0,23	0,56±0,21			39,45±0,40	42
387YK	127	19,32±0,47	1,29±0,44	0,77±0,27			39,93±0,29	42
625K	119	19,11±0,23	1,32±0,28	1,15±0,37			39,55±0,31	42

Cədvəl 3. Cinsarası qısaboylu xətlərin genom-xromosom tərkibi

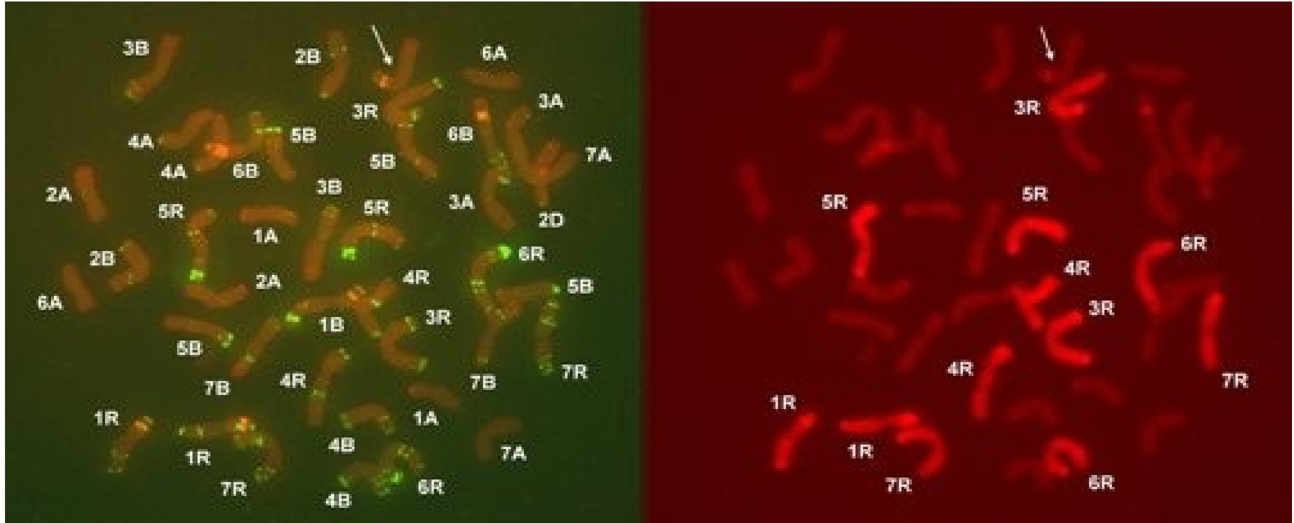
Genom	Xromosom	375YK	377YK	378/1YK	378/3YK	380YK	383/1YK	384/1K	384/2K	386/1K
A	1	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
	2	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
	3	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
	4	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
	5	- -	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	- -
	6	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
	7	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
B	1	+	+ +	- -	- -	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
	2	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
	3	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
	4	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
	5	+ + + +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
	6	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
	7	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
D	1	- -	+ +	+ +	+ +	+ +	- -	- -	- -	+ +
	2	+ +	+ +	- -	+ +	+ +	- -	+ +	+ +	+ +
	3	- -	+ +	- -	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
	4	- -	T	- -	- -	- -	+ +	+ +	+ +	+ +
	5	- -	+ +	- -	- -	- -	+ +	+ +	+ +	+ +
	6	- -	+ +	- -	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
	7	- -	+ +	- -	- -	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
R	1	+ +	- -	+ +	+ +	- -	+ +	+ +	+ +	- -
	2	- -	- -	+ +	- -	- -	+ +	- -	- -	- -
	3	+ +	- -	+ +	- -	- -	- -	- -	- -	- -
	4	+ +	- -	+ +	+ +	+ +	- -	- -	- -	- -
	5	+ +	- -	+ +	+ +	+ +	- -	- -	- -	+ +
	6	+ +	- -	+ +	- -	- -	- -	- -	- -	- -
	7	+ +	T	+ +	+ +	t t	- -	- -	- -	- -
N		+								
Ə/O		2D(2R) 5B(5A)		1D(1B)	1R(1B) 2D(2R) 3D(3R) 6D(6R)	1D(1R) 2D(2R) 3D(3R) 6D(6R)	1R(1D) 2R(2D)	1R(1D)	1R(1D)	5R(5A)
2n		42	42	42	42	44	42	42	42	42

Burada: **N** – naməlum xromosomu, **T** – translokasiyanı, **t** – telosomluğu, **Ə/O** - əvəzolunmanı ifadə edir.

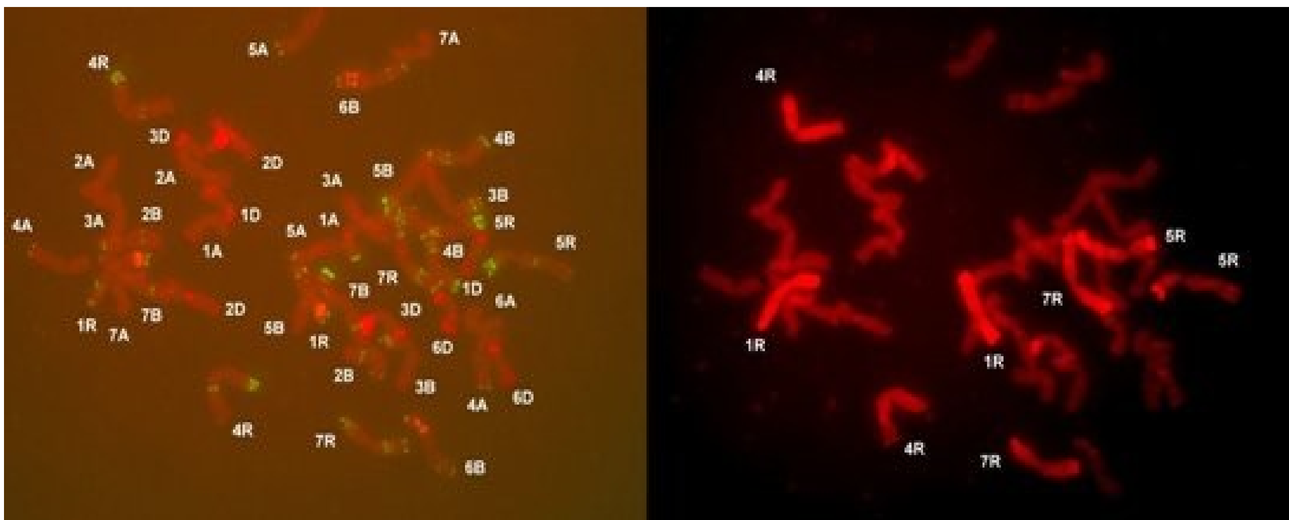
zənn edilən həmin naməlum xromosomun qısa çiynində, mikrosatellitli 1BS xromosomunda müşahidə edilən sarı rəngli xarakterik zolağın olmasına baxmayaraq, o, 1B xromosomundan hər iki çiyninə görə kəskin surətdə fərqlənmişdir (Şəkil 2). Bundan əlavə, buğdanın çatışmayan (nullisom) bir cüt 5A xromosomunun tetrasom 5B xromosomlarından ikisi ilə [5B(5A)], çovdarın çatışmayan bir cüt 2R xromosomunun isə buğdanın 2D xromosomu ilə [2D(2R)] əvəzləndiyi aşkar edilmişdir.

Qeyd etmək lazımdır ki, buğdanın çovdarla asanlıqla hibridləşməsi, çovdarın heterogen genetik materialının daha geniş istifadə imkanları, habelə alınan cinsarası buğda-çovdar formalarında xromosom pasportlaşdırılması üçün yeni molekulyar sitogenetik metodların mövcudluğu xromosomların cinsarası əvəzolunması metodunun hələ də perspektivli qalmasına şərait yaradır. O. Silkova və həmkarları (2006, 2008) xromosomların cinsarası əvəzlənməsi metodundan istifadə etməklə buğda və çovdar arasında 1R(1A), 1R(1D), 2R(2D), 3R(3B), 5R(5D), 5R(5A) və 6R(6A) kimi əvəzolunmuş xətlərin yaradılmasına müvəffəq olmuşlar. Həmin xətlərin genom tərkibini öyrənərkən C-bəndləmə, GISH və SSR-markerlərdən istifadə edən tədqiqatçılar xromosomları identifikasiya olunmuş bu xətlərin gələcək genetik tədqiqat işlərində "ikincili gen pulu" kimi model qismində istifadəsini mümkün hesab etmişlər. Tədqiqatlar sayəsində 386/1K, 384/1K, 384/2K və 383/1YK xətlərində, əksinə, buğdanın çatışmayan xromosom cütlərinin müvafiq çovdar xromosomu cütləri ilə əvəzləndiyi müəyyənləşdirilmişdir. Belə ki, birinci xətdə buğdanın 5A xromosomu çovdarın

5R [5R(5A)], ikinci və üçüncüdə buğdanın 1D xromosomu çovdarın 1R [1R(1D)], dördüncüdə isə buğdanın çatışmayan iki cüt (1D və 2D) xromosomu çovdarın müvafiq 1R və 2R [1R(1D) və 2R(2D)] xromosomları ilə əvəz olunmuşdur. Xatırladaq ki, yumşaq buğdanın Rang və iridənli Mironovskaya sortlarında tək dominant *Vrn-A1* genini daşıyan 5A xromosomunun 5R xromosomu (*Vrn6* və *Vrn7*) ilə əvəzlənməsi onları payızlıq formaya çevirmişdir. Belə ki, adıçəkilən sortların 5R(5A) əvəzolunmuş xətləri Novosibirsk yaxınlığında becərilərkən, onların qışa dözümlülüyü, valideynlərinə nisbətən, müvafiq olaraq, 20-47 % və 27-34 % yüksək olmuşdur (Stelmakh, Avsenin, 1996; Ефремова и др., 2006; 2008).



Şəkil 2. 375YK xəttinə məxsus eyni metafaz lövhədə xromosomların FISH (solda) və GISH (sağda) vasitəsilə identifikasiyası zamanı bu xəttin nullisom(5A)-tetrasom(5B) olduğu müəyyən edilmişdir. Eyni zamanda, oxla göstərilən naməlum xromosomun tərəf-müqabilsiz iştirak edən 1B xromosomuna homoloqluğu güman olunur.



Şəkil 3. 378/3YK xəttinə məxsus eyni metafaz lövhədə xromosomların FISH (solda) və GISH (sağda) vasitəsilə identifikasiyası zamanı bu xətdə 4 cüt çovdar xromosomunun (1R, 4R-5R, 7R) iştirakı və 1R(1B), 2D(2R), 3D(3R), 6D(6R) əvəzlənmələrinin baş verdiyi müəyyən olunmuşdur.

2R(2D) əvəzolunmuş xətlərini müxtəlif buğda sortları ilə bekkrosslaşdırmaqla 2R xromosomunun nəslə ötürülmə tezliyini və xarakterini tədqiq edən bir qrup tədqiqatçı (Красилова и др., 2011) bunun həm əvəzolunmuş xəttin, həm də bekkrosslaşmada istifadə olunan yumşaq buğda sortunun genotipindən asılı olduğunu göstərmişlər.

Yuxarıda haqqında bəhs etdiyimiz 386/1K, 384/1K, 384/2K və 383/1YK xətlərinin genom tərkibinə gəlincə, 386/1K xəttinin 12 ədəd A (1A-4A, 6A-7A), 14 ədəd B (1B-7B), 14 ədəd D (1D-7D) və 2 ədəd R (5R), 384/1K və 384/2K xətlərinin hər birinin 14 ədəd A (1A-7A), 14 ədəd B (1B-7B), 12 ədəd D (2D-7D) və 2 ədəd R (1R), 383/1YK xəttinin isə 14 ədəd A (1A-7A), 14 ədəd B (1B-7B), 10 ədəd D (3D-7D) və 4 ədəd R (1R və 2R) genomu xromosomlarından ibarət olduqları aşkar edilmişdir.

Növbəti iki xəttin (378/3YK və 380YK) xromosom tərkibi daha böyük maraq doğurmuşdur. Xromosom identifikasiyası zamanı 378/3YK xəttinin genom tərkibinin 14 ədəd A (1A-7A), 12 ədəd B (2B-7B), 8 ədəd D (1D-3D, 6D) və 8 ədəd çovdar (1R, 4R, 5R, 7R) genomu xromosomlarından təşkil olunduğu aşkar edilmişdir (Şəkil 3). Diqqətlə nəzər saldıqda, bu xətdə çovdar və buğda xromosomları arasında 4 cinsarası əvəzlənmənin baş verdiyini görmək olar: 1R(1B), 2D(2R), 3D(3R), 6D(6R). Göründüyü kimi, əvəzlənmələrdən biri çovdar xromosomu ilə buğdanın B genomu xromosomu, qalanları isə çovdar xromosomları ilə buğdanın D genomu xromosomları arasında baş vermişdir.

1R(1B) əvəzolunmuş xətlərini identifikasiya və xarakterizə edən tədqiqatçılardan bəziləri (Моцный и др., 2009) həmin əvəzolunmanın sekalinkodlaşdıran *Sec 1* və *Sec 2* lokuslarının orijinal allelləri ilə markerləndiyini müəyyənləşdirmişlər.

380YK xətti A (1A-7A) və B (1B-7B) genomu xromosomlarının tam heyəti, eləcə də 10 ədəd D (1D-3D, 6D-7D) və 6 ədəd R (4R-5R, 7Rt) genomu xromosomları ilə təmsil olunmuşdur. Çovdarın bir cüt xromosomu çiyinlərini itirdiyinə görə, həmin xətti ditelosom (7RDt) hesab etmək olar (Şəkil 4). Bu xətdə R və D genomu xromosları arasında baş vermiş 4 cinsarası əvəzolunmanı isə aşağıdakı qaydada sıralamaq olar: 1D(1R), 2D(2R), 3D(3R) və 6D(6R). Qeyd edək ki, bu xəttin xromosom dəsti, digərlərindən fərqli olaraq, 2n=44 olmuşdur .

R. Gill və başqaları (2010) 4 tritikale ilə 5 yumşaq buğda sortu arasındakı çarpazlaşmadan alınmış və BC_1F_4, BC_2F_3, F_4 və F_5 nəsillərinə mənsub morfoloji cəhətdən yekcins görünən 31 xətdə R genomu xromosomlarının 0-4, D genomu xromosomlarının isə 5-7 arasında variasiyalaşdığının və tərkibində D genomu xromosomlarının sayı çox olan hibridlərin buğdaya tərəf dönüş etdiklərinin şahidi olmuşlar.

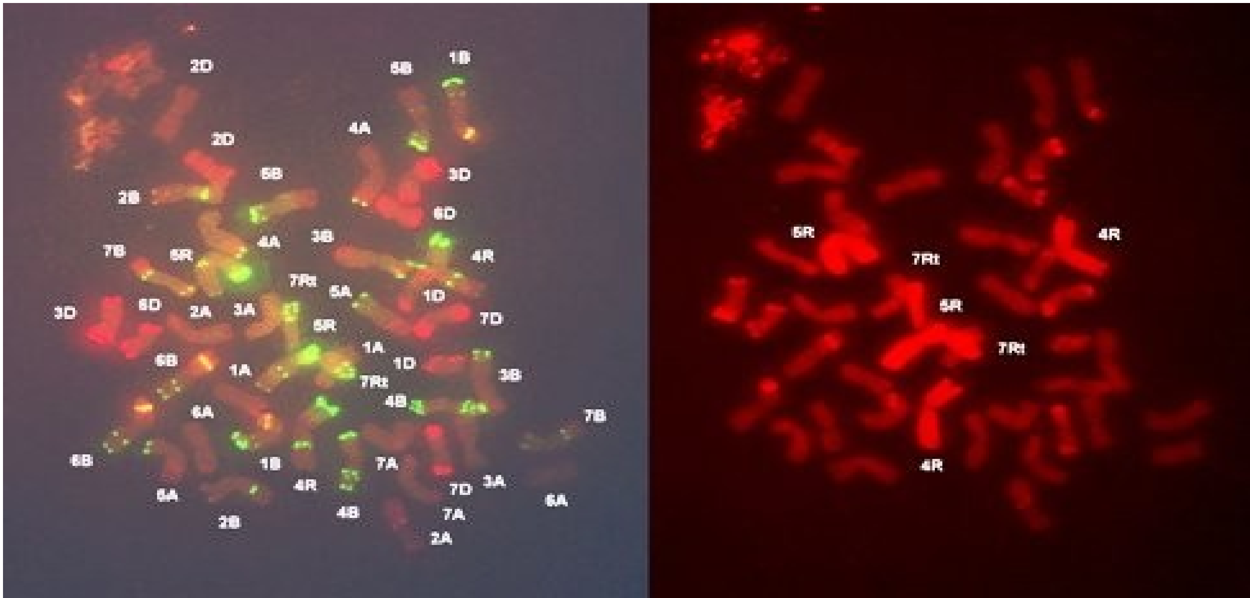
378/1YK xəttində buğdanın A (1A-7A) və çovdarın R (1R-7R) genomu xromosomlarının tam heyətlə təmsil olunduqları, bundan əlavə 12 ədəd B (2B-7B) və iki ədəd D (1D) genomu xromosomunun varlığı müşahidə edilmişdir. Bu xətdə çatışmayan iki ədəd 1B xromosomu 1D xromosomu ilə disom əvəz olunmuşdur [1D(1B)]. Bu əvəzolunmanın əvvəlkilərdən fərqi ondadır ki, burada əvəzolunma çovdar və buğda genomu xromosomları arasında deyil, iki buğda (D və B) genomu xromosomları arasında baş vermişdir.

377YK xəttində buğdanın A, B və D genomu xromosomlarının tam heyətlə iştirak etmələri və buğdanın bir cüt 4D xromosomunun qısa çiyni ilə çovdarın 7R xromosomunun uzun çiyni arasında translokasiyanın (T4DS-7RL) baş verməsi qeydə alınmışdır (Şəkil 5).

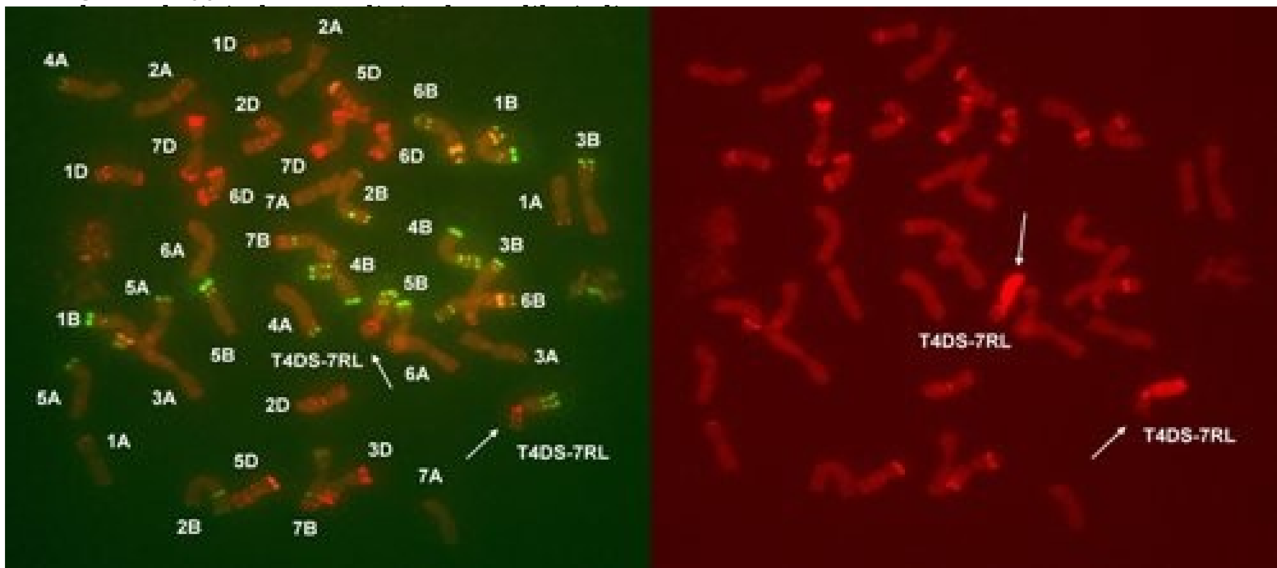
Bir qrup tədqiqatçı (Zhou et al., 2012) yumşaq buğda ilə çovdar arasındakı hibridləşmədən aldıqları yeni tritikaleni (ZH-1) GISH, FISH və C-bəndləmə metodları ilə tədqiq edərkən, onun genom tərkibinin 14 A (1A-7A), 12 B (1B-2B, 4B-7B), 12 R (1R, 3R-7R) və 2 D (6D) genomu xromosomlarından ibarət olduğunu, həmçinin, həmin tritikaledə T2DS.2DL-?R translokasiyasının baş verdiyini aşkara çıxarmışlar.

J. Ko və həmkarları (2001) tərəfindən Koreyaya məxsus yumşaq buğda və çovdar sortu çarpazlaşdırılmış və 1BL.1RS translokasiyasına malik Yw62–11 xətti alınmışdır ki, meyotik analizin nəticələri onda da, yumşaq buğdada olduğu kimi, 21 bivalentin formalaşdığını və xromosomlar arasında tam homologiyanın olduğunu nümayiş etdirmişdir. M. Divaşuk və başqaları (2005) da 2RS.2RL-2BL translokasiyasına malik 131/7 tritikale xəttinin sitogenetik cəhətdən stabil olub, metafaza I-də xromosom

konyuqasiyasının 21 qapalı bivalent ilə təmsil olunduğunu göstərmişlər.



Şəkil 4. 380YK xəttinə məxsus eyni metafaz lövhədə xromosomların FISH (solda) və GISH (sağda) vasitəsilə identifikasiyası zamanı bu xətdə üç cüt çovdar – 4R-5R və 7R xromosomunun varlığı qeydə alınmışdır ki, bunlardan da bir cütünün telosentrik (7Rt) olduğu müəyyən edilmişdir. Həmçinin, bu xətdə 1D(1R), 2D(2R), 3D(3R) və 6D(6R)



Şəkil 5. 377YK xəttinə məxsus eyni metafaz lövhədə xromosomların FISH (solda) və GISH (sağda) vasitəsilə identifikasiyası zamanı bu xəttin 4DS-7RL translokasiyasına malik olduğu aşkar edilmişdir.

Lakin qeyd etməliyik ki, bizim təcrübədə translokant 377YK xəttində meyotik analizin nəticələri hər bir ATH-ə təqribən 2 univalentin düşdüyünü göstərmişdir, ki, bu da, görünür, meyotik stabilliklə translokasiyanın məhz hansı xromosomlar arasında baş verməsi və xromosomdakı mövqeyi arasında müəyyən asılılığın mövcudluğu ilə əlaqədardır.

Beləliklə, ayrı-ayrı xromosomların təsərrüfat əhəmiyyətli əlamətlərin ekspressiyasına təsirinin öyrənilməsində və eləcə də həmin əlamətlərə cavabdeh olan genlərin yerinin təyinində və xəritələnməsində E. Sirsin Chinese Spring sortundan istifadə etməklə aldığı aneuploid və əvəzolunmuş xətlərdən geniş istifadə olunduğunu və hazırda əsas diqqətin arzuolunan əlamətləri

daşıyan ayrı-ayrı xromosom və ya xromosom sahələrini qohum cins və növlərdən yumşaq buğdaya tez bir zamanda və məqsədyönlü ötürməyin effektiv metodlarının işlənib hazırlanmasına yönəldildiyini nəzərə alsaq, genom tərkibi tədqiq olunan qısaboylu xətlər arasında əvəzolunmuş və translokant xətlərin aşkar edilməsinin genetika və seleksiya, eləcə də biomüxtəlifliyin zənginləşdirilməsi baxımından nə qədər mühüm əhəmiyyət kəsb etdiyini təsəvvür etmək çətin olmaz.

MİNNƏTDARLIQ

Bu iş Azərbaycan Respublikasının Prezidenti yanında Elmin İnkişafı Fondunun maliyyə yardımı ilə yerinə yetirilmişdir – **Qrant №EİF-2011-11(3)-82/52/3**.

Müəlliflər, həmçinin, tədqiqat işinin yerinə yetirilməsində göstərdikləri dəstəyə görə Macarıstan EA nəzdində Kənd Təsərrüfatı Tədqiqatları Mərkəzinin Baş direktoru Z. Bödeyə və Molekulyar sitogenetika laboratoriyasının rəhbəri M. Molnar-Lanq başda olmaqla, həmin laboratoriyanın işçi heyətinə öz dərin minnətdarlıqlarını bildirirlər.

ƏDƏBİYYAT

Əliyeva A.C. (1998) Buğdanın cırtdanlılıq genlərinə malik qısaboylu konstant hibrid formalarında sitogenetik stabilləşmə. Azərbaycan EA–nın Xəbərləri (bio. elm. ser.), **№ 1-6:** 117-120.

Аминов Н.Х., Мамедов А.Р. (1981) Necotoriye osobennosti trekhrodovykh gibridov *(T. durum × Ae. squarrosa) × S. segetale*. Materialy IV syezda genetikov i selektsionerov Azerbaydjana, Baku: Elm, c. 26 (in Russian).

Divashuk M.G., Bazaleev N.A., Solovyev A.A. (2005) Tsitogeneticheskaya charakteristika linii tritikale 131/7. Tezisy dokladov i stendovych soobsheniy V Mejdunarodnogo soveshaniya i Shkoly molodych uchenych po kariologii, kariosistematike i molekulyarnoy sistematike rasteniy, Sankt-Peterburg, 12-15 October 2005, c. 30 (in Russian).

Efremova T.T., Laykova L.I., Arbuzova V.S., Popova O.M. (2008) Sochranenie geneticheskogo raznoobraziya aneuploidnych i zamezhennych liniy myagkoy pshenitsy i ich ispolzovanie. Vestnik VOGiS, **12(4):** 662-671(in Russian).

Konarev V.G. (2001) Morfogenez i molekulyarno-biologicheskiy analiz rasteniy. S. Peterburg, 405 s. (in Russian).

Krasilova N.M., Adonina I.G., Silkova O.G., Shumniy V.K. (2011) Osobennosti peredachi chromosomy rji 2R pri bekkrossirovanii pshenichno-rjanych zameshennyxh liniy 2R(2D) razlichnymi sortami myagkoy pshenitsy. Vavilovskiy jurnal genetiki i selektsii, **15(3):** 554-562 (in Russian).

Motsniy I.I., Fayt V.I., Blagodarova E.M. (2009) Identifikatsiya i charakteristika 1R(1B) zameshennych liniy myagkoy pshenitsy. Tsitologiya i genetika, **3:** 26-35 (in Russian).

Pauscheva Z.P. (1988) Praktikum po tsitologii rasteniy. Moscow, Agroprompress: 304 s. (in Russian).

Salina E.A., Schapova A.I., Shumniy B.K. (2006) Sozdanie pshenichno-rjanych zameshennych liniy s identifikatsiey chromosomnogo sostava kariotipov metodami C-bendinga, GISH i SSR-markerov. Genetika, **42(6):** 793-802 (in Russian).

Silkova O.G. Schapova A.I., Shumniy V.K. (2008) Peredacha geneticheskogo materiala rji v genom myagkoy pshenitsy metodom mejgenomnogo zamesheniya chromosom. Vestnik VOGiS, **12(4):** 654-661 (in Russian).

Bedbrook J.R., Jones J., O'Dell M., Thompson R.J., Flavell R.B. (1980) A molecular description of telomeric heterochromatin in *Secale* species. Cell, **19:** 545–560.

Chung H.M., Shea C., Fields S., Taub R.N., Ploeg van der L.H.T. (1990) Architectural organization in the interphase nucleus of the protozoan *Trypanosoma brucei*: Location of telomeres and mini-chromosomes. EMBO J., **9:** 2611-2619.

Chrząstek M (2003) Cytogenetic stability of wheat lines (*Triticum aestivum* L.)

with added and substituted chromosomes of rye (*Secale cereale* L.). Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica, **45/2:** 117–126.

Gerlach W.L., Bedbrook J.L. (1979) Cloning and characterization of ribosomal RNA genes from wheat and barley. Nucleic Acids Research, **7:** 1869–1885.

Silkova O.G., Dobrovolskaya N.I., Dubovets N.I., Adonina I.G., Kravtsova L.A., Roder M.S., Efremova T.T., Maystrenko O.I., Arbuzova V.S., Laikova L.I., Panina G.M., Popova O.M., Berezova O.V. (2006) Effect of alien 5R(5A) chromosome substitution on ear-emergence time and winter hardiness in wheat-rye substitution lines. Euphytica, **151:** 145–153

Gill R.S., Bains N.S., Dhindsa G.S. (2010) Characterization of D(R) chromosome segregant lines from triticale x bread wheat crosses using chromosome specific SSR markers. Wheat Inf. Serv., **110:** 19-23.

Huang X.-Q., Wolf M., Ganal M.W. et al. (2007) Did modern plant breeding lead to genetic erosion in european winter wheat varieties? *Crop Sci.,* **47:** 343–349.

Ko J.M., Seo B.B., Suh D.Y., Do G.S., Park D.S., Kwack Y.H. (2000) Production of a new wheat line possessing the 1BL.1RS wheat-rye translocation derived from Korean rye cultivar Paldanghomil. Theoretical and Applied Genetics, **104(2-3):** 171-176

Kőszegi B., Linc G., Juhász A., Molnár-Láng M. (2000) Occurrence of the 1RS/1BL wheat–rye translocation in Hungarian wheat varieties. Acta Agronomica Hungarica, **48(3):** 227–236.

Kozub N.A., Sozinov I.A., Sobko T.A., Sozinov A.A. (2009) Variation at storage protein loci in winter common wheat cultivars of the Central Forest-Steppe of Ukraine. Cyt. Genetics, **43:** 69-77.

Linc G., Friebe B.R., Kynast R.G., Molnár-Láng M., Kõszegi B., Sutka J., Gill B.S. (1999) Molecular cytogenetic analysis of *Aegilops cylindrica* host. Genome, **42:** 497–503

Lukaszewski A.J. (1990) Frequency of 1RS.1AL and 1RS.1BL translocations in United States wheats. Crop Sci., **30:** 1151–1153.

Molnár-Láng M., Linc G., Friebe B.R., Sutka J. (2000) Detection of wheat–barley translocations by genomic in situ hybridization in derivatives of hybrids multiplied *in vitro*. Euphytica, **112:** 117–123

Nagaki K., Tsujimoto H., Isono K., Sasakuma T. (1995) Molecular characterization of a tandem repeat, Afa family, and its distribution among Triticeae. Genome, **38:** 479–486.

Rawlins D.J., Highett M.I., Shaw P.J. (1991) Localization of telomeres in plant interphase nuclei by in situ hybridization and 3D confocal microscopy. Chromosoma, **100:** 424-431.

Reader S.M., Abbo S., Purdie K.A., King I.P., Miller T.E. (1994) Direct labelling of plant chromosomes by rapid in situ hybridization. Trends Genet., **10:** 265–266.

Stelmakh A.F., Avsenin V.I. (1996) Alien introgression of spring habit dominant genes into bread wheat. Euphytica, **89:** 65–68.

Villareal R.L., Banuelos O., Mujeeb-Kazi A., Rajaram S. (1998) Agronomic performance of chromosome 1B and T1BL.1RS near-isolines in the spring bread wheat Seri M82. Euphytica, **103:** 195–202.

Zeller F.J. (1973) 1B/1R wheat-rye chromosome substitutions and translocations. Proc. 4th Intern. Wheat Genet Symp, Columbia, Missouri, USA, 209–221.

Zeller F.J., Fuchs E. (1983) Cytology and disease resistance of a 1A/1R and some 1B/1R wheat-rye translocation cultivars. J. Plant Breed, **90:** 285–296.

Zhou J., Zhang H., Yang Z., Li G., Hu L., Lei M., Liu C., Zhang Y., Ren Z. (2012) Characterization of a new T2DS.2DL-? R translocation triticale ZH-1 with multiple resistances to diseases. Genet Resour Crop Evol, **59:** 1161–1168.

Исследование Короткостебельных Межродовых Линий, Полученных При Скрещивании *Aegilotriticale* с Мягкой Пшеницей (*Triticum aestivum* L.), Классическими и Молекулярно- Цитогенетическими Методами

С помощью классических и молекулярно-цитогенетических методов (FISH, GISH) были изучены 17 короткостебельных – 9 карликовых (K) и 8 полукарликовых (YK) межродовых линий, полученных в результате скрещивания *Aegilotriticale* или трехродового неполного амфидиплоида [(*Triticum durum* Desf. × *Aegilops tauschii* Coss.) × *Secale cereale* L. ssp. *segetale* Zhuk.] (геномная формула AABBD/R, 2n=6x=42) с сортом мягкой пшеницы (*T. aestivum* L.) Чайниз Спринг (AABBDD, 2n=6x=42). В результате исследований было установлено, что одна из этих линий (377YK) является транслокантной (T4DS-7RL), 8 – замещенными, а остальные состоят только из хромосом пшеницы. Из 8 замещенных линий в 4-х (378/1YK, 384/1K, 384/2K, 386/1K) замещение произошло между одной [1D(1B), 1R(1D), 1R(1D), 5R(5A), соответственно], в 2-х (375YK, 383/1YK) – между двумя [2D(2R), 5B(5A) и 1R(1D), 2R(2D), соответственно], а в 2-х (378/3YK и 380YK) – между 4 [1R(1B), 2D(2R), 3D(3R), 6D(6R) и 1D(1R), 2D(2R), 3D(3R), 6D(6R), соответственно] парами хромосом. В процессе идентификации хромосом в линии 375YK наблюдалась двойная доза (4 штуки) 5B и отсутствие 5A хромосом пшеницы, а в линии 380YK – пара телоцентрических хромосом ржи (7Rt), что свидетельствовало о нуллисомно-тетрасомности первой и дителосомности второй линии, соответственно. В линии 375YK выявлена одна неизвестная хромосома, которая, по всей вероятности, является гомологом присутствующей без пары 1B хромосомы. Кроме того, в отличие от других, линии, имеющие в своем геномном составе 4 и больше хромосом ржи, оказались менее стабильными в мейозе.

Ключевые слова: *межродовая гибридизация, короткостебельный, мейоз, FISH, GISH, идентификация хромосом, транслокация, замещенная линия*

Investigation of Short-stemmed Intergeneric Lines Produced Between*Aegilotriticale*and Soft Wheat (*Triticumaestivum*L.) by Classical and Molecular Cytogenetic Methods

A.J.Aliyeva, N.Kh. Aminov

Institute of Genetic Reseourses, ANAS

17 short-stemmed (9 dwarf and 8 semi-dwarf) lines produced between *Aegilotriticale* or threegeneric incomplite amphidiploid [(*Triticum durum* Desf. × *Aegilops tauschii* Coss.) × *Secale cereale* L. ssp. *segetale* Zhuk.] (genome formula AABBD/R, 2n=6x=42) and the soft wheat variety (*T. aestivum* L.) ‘Chinese Spring’ (AABBDD, 2n=6x=42) were investigated by classical and molecular cytogenetic methods (FISH, GISH). As a result of study it has been found that one of these lines(377YK) has a translocation (T4DS-7RL), 8 are substitution lines and others are composed of only wheat chromosomes. Among these 8 substituted lines a substitution occurred in four lines (378/1YK, 384/1K, 384/2K, 386/1K)between one [1D(1B), 1R(1D), 1R(1D), 5R(5A), respectively], in two lines (375YK, 383/1YK) – between two [2D(2R), 5B(5A) and 1R(1D), 2R(2D), respectively], in two line (378/3YK and 380YK) – between four[1R(1B), 2D(2R), 3D(3R),6D(6R) and 1D(1R), 2D(2R), 3D(3R), 6D(6R), respectively] pair chromosomes. The presence of double dose (4 pieces) of 5B chromosome and absence of 5A chromosomes in a line 375YK and existence of two telocentric chtomosomes of rye (7Rt) in a line 380YK indicated that the former was a nulli(5A)-tetrasomic(5B) (Nt) and the latter was a ditelosomic (Dt) line. In a line

375YK a single unknown chromosomewas also detected, which wasprobably a homolog to the single 1B chromosome. Moreover, unlike the other lines, the lines having four or more rye chromosomes in their genome composition were more unstablein meiosis.

Key words: *intergenomic crossing, short-stemmed, meiosis, FISH, GISH, chromosome identification, translocation, substitution*